Zum Osmoseverhalten halophiler Euglenen vom Neusiedler See

Von Alfred Diskus

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

Mit 3 Tafeln

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. April 1953)

Einleitung.

Bereits Klebs (1883) hat durch Behandlung von Euglenen mit osmotisch wirksamen Lösungen den grundlegenden Unterschied im Verhalten dieser pflanzlichen Einzeller gegenüber Pflanzen mit starren, toten Zellmembranen aufgezeigt. Die Euglenazelle besitzt eine von den Zellmembranen aller übrigen Pflanzen anatomisch und funktionell völlig verschiedene Körperhülle. Es gelingt nie, das Zytoplasma von dieser Membran (Pellikula) zu trennen, die Zellen sind unplasmolysierbar. In hypertonischen Lösungen erfolgt ein Anschwellen der Hauptvakuole, und die ganze Zelle schrumpft infolge Wasserentzuges.

Nach Klebs hat sich noch Yasuda (1899) mit den osmotischen Eigenschaften von *Euglena* beschäftigt. Die von Klebs beobachteten, grundlegenden Erscheinungen wurden jedoch erst in neuerer Zeit in den Arbeiten von K. u. L. Höfler (1952) und K. Hilmbauer (1954) eingehend untersucht.

Alle eben genannten Autoren haben stets mit hypertonischen Lösungen gearbeitet. Es lag nahe, diese Flagellaten nun auf ihr Verhalten in hypotonischen Medien zu prüfen, zumal mein Material aus stark salzhaltigen Gewässern (Sodatümpeln) des Neusiedler Sees stammte und so ein Arbeiten mit hypotonischen Lösungen leicht möglich war. Diese halophilen Euglenen regten auch durch ihre hohe osmotische Resistenz zu Versuchen solcher Art an.

Material und Methodik.

Anläßlich einer Exkursion an den Neusiedler See im Oktober 1952 wurde in salzhaltigen Gewässern der Umgebung von Podersdorf und Illmitz Euglenenmaterial gesammelt. Es enthielt haupt-

sächlich zwei Arten. Am Ortsrande von Illmitz kam in Sodalacken, welche durch die aus der Ortschaft frei ablaufenden Abwässer stark verunreinigt waren, *Euglena geniculata* Duj. (Taf. 1, Fig. 1) in Massen und fast rein vor. Die Massenvegetation dieser Euglena bewirkte eine satte Grünfärbung von Wasser und Schlamm.

Die zweite Art wurde in der Umgebung von Podersdorf in einem im Austrocknen begriffenen Tümpel (Bombentrichter) gefunden. Sie kam hier massenhaft in Form eines grünen Überzuges am Grunde des Tümpels in Gesellschaft einer Diatomee (*Cymbella pusilla*)[1] und einiger Cyanophyceen (*Oscillatoria chlorina, Osc. Okenii, Osc. ornata*) vor. Das Wasser war ziemlich rein und anscheinend nicht durch Fäkalien verunreinigt. Mittels der mir zugänglichen Bestimmungswerke und Beschreibungen (Pascher 1914, Lemmermann 1910, Schiller 1952, Dangeard 1902, Skuja 1948) ist diese Art nicht zu bestimmen. Wie mir Herr Prof. Dr. Schiller mitteilte, ist es sicherlich gerechtfertigt, diese Form als neue Art zu beschreiben:

Euglena halophila n. sp. Schiller (Taf. 1, Fig. 2): Monada valde metabolica, fusiformis et cylindrica utroque fine rotundata. 100 ad 120 μ longa, 8 ad 10 μ lata. Flagellum brevissimum vel nullum. Periplastus sat firmus, spiraliter striatus, mucilaginem effundens. Chromatophori pauci, 15 ad 20, lateraliter sparsi, diametro 8 μ, sine pyrenoide. Stigma sat rubrum. Granula pyramylacea copiosa, ovala vel cylindrica. Multiplicatio divisione longitudinali in statu mobile.

Das Material wurde in kühlen Nordfenstern des Institutes aufbewahrt, wo es sich gut hielt.

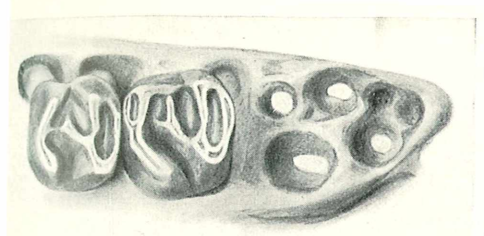
Die Versuche wurden nach der Eiltechnik (Huber und Höfler 1930) ausgeführt: Zu einem kleinen Tropfen Untersuchungsmaterial wurde unter einem von Deckglassplittern gestützten Deckglas die jeweilige Lösung zufließen gelassen. Die Zellen waren so zahlreich in dem Tropfen vorhanden, daß der Verlust durch weggeschwemmte Zellen nicht ins Gewicht fiel.

Die Konzentrationsangaben aller Lösungen verstehen sich volumsnormal.

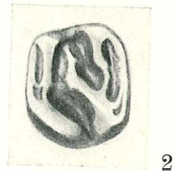
Versuche.

Im folgenden sei das Verhalten von *Euglena halophila* in aqua dest. und die Vorgänge beim nachfolgenden Auswaschen mit Standortswasser in Form von Versuchsprotokollen beschrieben:

[1] *Cymbella pusilla* ist eine Charakterart der Natrontümpel-Zicklacken im Gebiet des Neusiedler Sees (Legler 1941). Sie ist auch Bestandteil einer für die Natronseen des ungarischen Alfölds typischen Diatomeenassoziation (Cholnoky 1930).



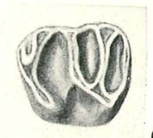
1



2



3



6

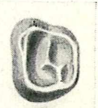


5

7

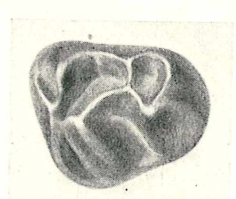


8

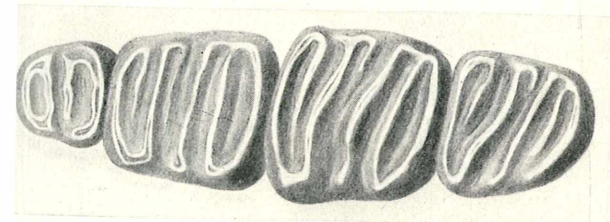


4

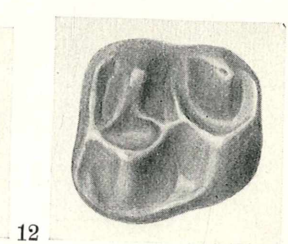
9



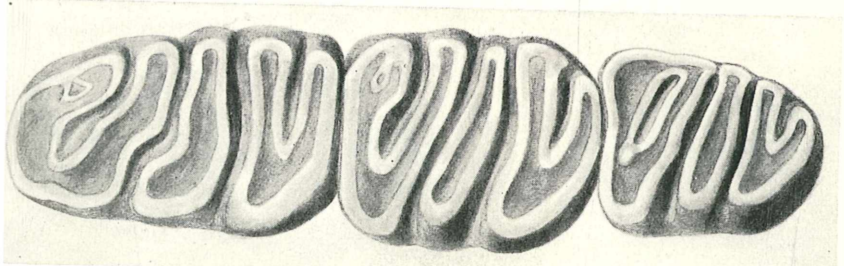
10



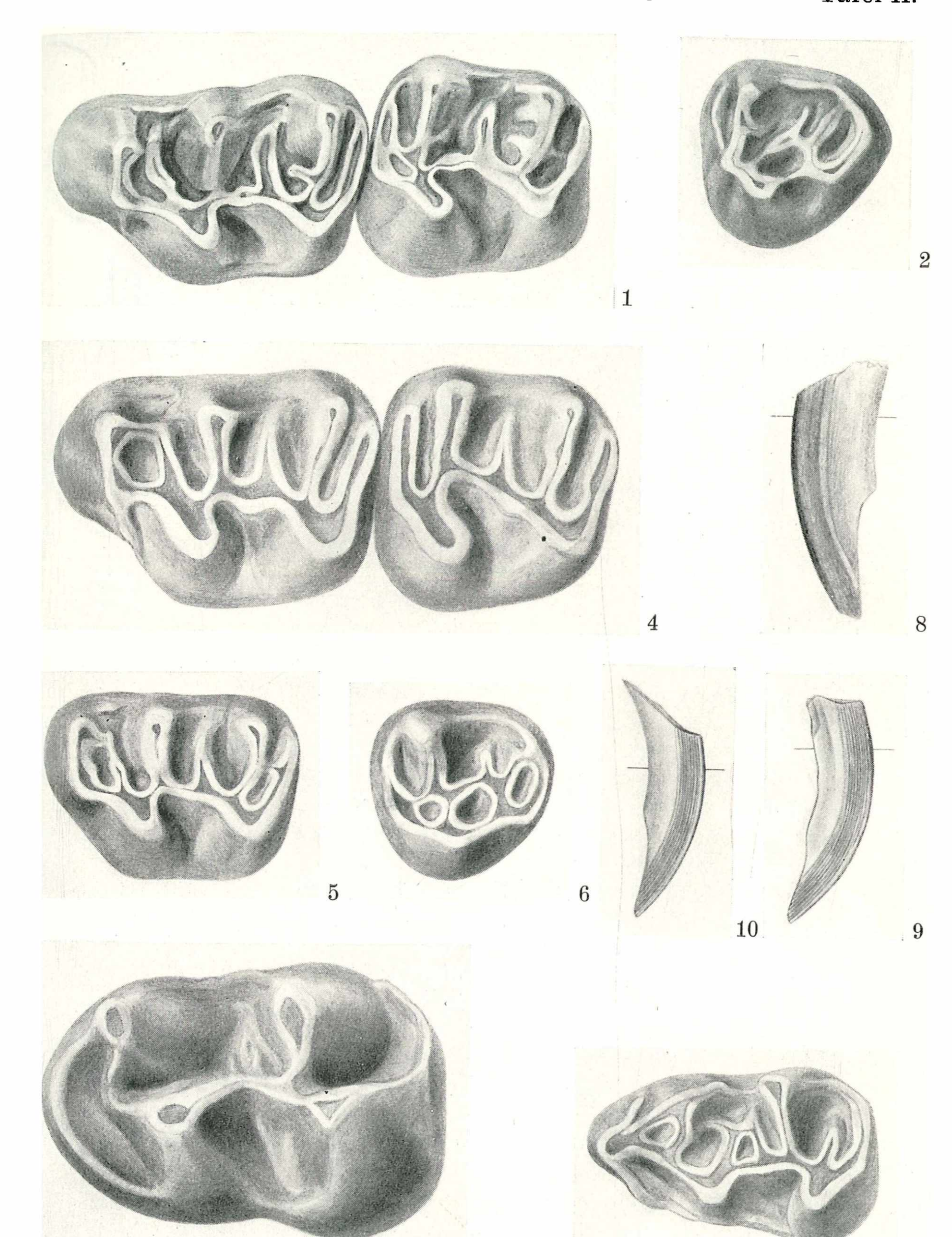
12



11



13


1
2
4
8
5
6
10
9
7
3

10 Uhr 20: Zu einem kleinen Tropfen euglenenhaltiger Flüssigkeit wurde dest. Wasser zufließen gelassen und damit das Präparat gründlich ausgewaschen, um alle Salzspuren zu entfernen. Die Zellen zeigen daraufhin lebhafte Metabolie. Dabei sind peristaltisch über die ganze Zelle verlaufende Wellen besonders häufig, wobei das eine Mal das Vorderende, dann wieder das Hinterende sehr schnell vorgestreckt wird.

10 Uhr 30: Beginnende wabige Zerklüftung des Plasmas bei noch lebhafter Metabolie der Zellen. Die Waben treten in der ganzen Zelle gleichzeitig auf, sie sind zahlreich vorhanden und klein (Taf. 2 Fig. 1). Beigemengte Diatomeen (*Cymbella pusilla*) kriechen herum und zeigen keine auffällige Reaktion auf diese Änderung ihrer Umwelt.

10 Uhr 55: Die Zellen sind jetzt stark vakuolisiert. Die Waben sind weniger und größer geworden. Es ist keine oder nur sehr geringe Metabolie zu beobachten. Die Waben liegen meist an der Peripherie der Zellen. Die Paramylonkörner sind im Plasma rund um die Vakuolen angeordnet und treten besonders stark hervor. Die Plastiden werden durch die sich ausdehnenden Vakuolen gegeneinander geschoben, sie erscheinen infolge dieser Zusammenballung tiefer grün als in normalem Zustand. Die Hauptvakuole ist unverändert geblieben. Meist sind die Zellen am Hinterende bauchig aufgetrieben, während der vordere Teil weniger verändert erscheint. Bisweilen sind sie auch in allen Teilen gleichmäßig angeschwollen (Taf. 2, Fig. 2). Kugelige oder elliptische Formen treten nicht auf. In der Probe spärlich vorhandene Zellen von *Euglena deses* waren tot oder stark geschädigt. Eine Vakuolisierung der Zellen war nur selten zu beobachten.

11 Uhr: Standortswasser durchgesaugt.

11 Uhr 10: Wenige Zellen haben sich gestreckt und sind lebhaft metabolisch. Vakuolige Zerklüftung ist an ihnen nicht mehr zu sehen. Ein Großteil der Zellen ist noch aufgetrieben, verkürzt und stark vakuolisiert. Die Hauptvakuolen beginnen sich stark zu vergrößern.

11 Uhr 15: Die Vakuolisation geht allmählich zurück, die Waben werden kleiner und undeutlicher. Die Hauptvakuolen

sind sehr stark angeschwollen und die Zellen träge metabolisch.

11 Uhr 25: Die Hauptvakuolen sind noch stark vergrößert, die Vakuolisierung jedoch stark zurückgegangen.

12 Uhr: Die Hauptvakuolen sind noch immer stark vergrößert. Die Zellen zeigen eine Tendenz zur Streckung und Rückkehr zu normaler Zellgestalt und Metabolie. Ganz wenige haben sich vollständig rückgedehnt, ihre Hauptvakuolen sind klein und unscheinbar geworden.

12 Uhr 15: Sehr viele Zellen sind bereits normal. Die übrigen haben noch vergrößerte Hauptvakuolen, doch sind auch diese normal gestaltet und beweglich.

12 Uhr 30: Die meisten Zellen sind wieder normal, bei manchen ist die Hauptvakuole noch angeschwollen.

12 Uhr 40: Die Vakuolisation ist bei allen Zellen vollständig zurückgegangen. Die Hauptvakuolen sind klein und unscheinbar geworden. Metabolie und Zellgestalt gleichen der unbehandelter Zellen. (Taf. 3, Fig. 1.)

Diese eben beschriebenen Erscheinungen konnten auch noch an *Euglena geniculata* Duj. aus den Salzlacken von Illmitz beobachtet werden. Der osmotische Wert dieses Wassers war jedoch bedeutend niedriger als der des Sodatümpels aus der Umgebung von Podersdorf. Brachte man in dieses Standortswasser die Euglenen aus Illmitz, so zeigten sie Vergrößerung der Hauptvakuole, Schrumpfung und osmotische Verkrampfung.

Die Art der Vakuolisierung in aqua dest. und die Rückkehr zu normalen Verhältnissen waren, wie folgender kurzer Protokollauszug zeigt, im wesentlichen ähnlich den Vorgängen an *Euglena halophila* Schiller.

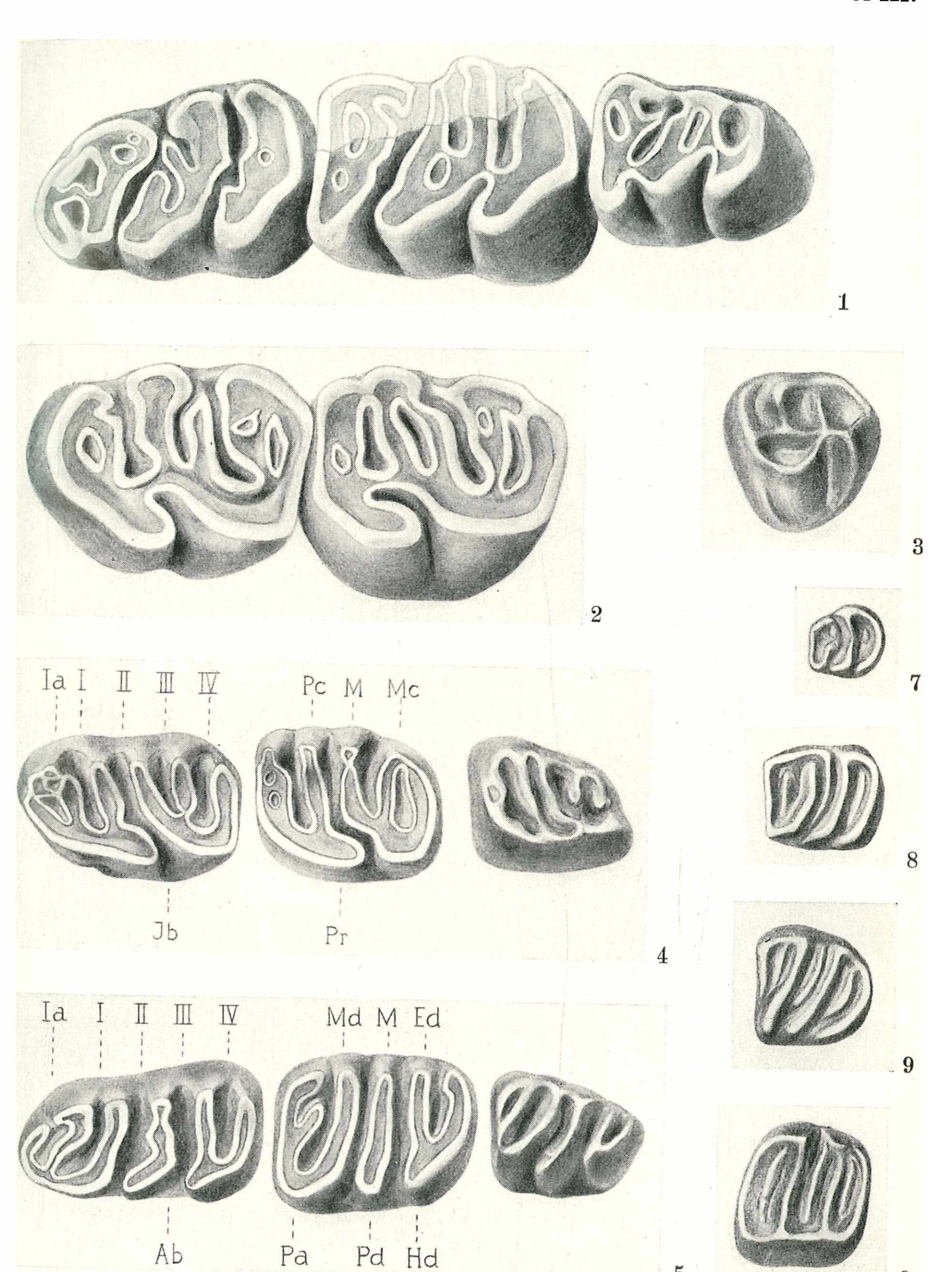
9 Uhr 50: Zellen in aqua dest. eingelegt.

10 Uhr 30: Starke Vakuolisation des Plasmas. Die Vakuolen sind sehr groß und in geringer Anzahl vorhanden. Die Zellen sind oval aufgetrieben und zeigen keine Bewegung. (Taf. 3, Fig. 2.)

10 Uhr 40: Standortswasser durchgesaugt.

11 Uhr 30: Die Waben sind bedeutend kleiner geworden, während die Hauptvakuolen stark angeschwollen sind.

13 Uhr 15: Die Vakuolisation ist zurückgegangen, die Zellen sind normal gestaltet und teilweise in schwimmender Bewegung.


1
2
3
7
8
9
6
Ia
I
II
III
IV
Pc
M
Mc
Jb
Pr
4
Ia
I
II
III
IV
Md
M
Ed
Ab
Pa
Pd
Hd
5

Es ist nun interessant zu sehen, daß auch geringe Konzentrationen von Traubenzucker und KCl noch ähnlich wirken wie destilliertes Wasser. Die nun folgenden Versuche wurden an *Euglena halophila* ausgeführt: In 0,05 mol TRZ. sind nach 30 Minuten die Zellen stark vakuolisiert und nur träge metabolisch. Auch in 0,1 mol tritt die Vakuolisation deutlich, wenn auch in geringem Grade, auf. Die Zellen sind dabei normal beweglich. In 0,15 mol sind nur mehr wenige Zellen vakuolisiert, alle übrigen sind normal. In 0,2 mol verhalten sich die Zellen normal wie in Standortswasser. Dasselbe Verhalten zeigt sich in 0,3 mol TRZ. In 0,4 mol tritt die Hauptvakuole vereinzelt stärker hervor. Andere Zellen wieder erscheinen etwas verschmälert, ihre Hauptvakuolen sind klein und unscheinbar geblieben.

Das Verhalten in KCl-Lösung ist ähnlich dem in Traubenzucker. In 0,05 mol KCl ist das Plasma nach 50 Minuten stark vakuolisiert. In 0,1 mol ist auch nach 1 Stunde noch keine Vakuolisierung zu beobachten. Die Hauptvakuolen sind klein geblieben. Dasselbe zeigt sich in 0,2 mol. Eine Konzentration von 0,3 mol KCl bewirkt bereits eine deutliche Vergrößerung der Hauptvakuole. Die Zellen sind teils normal gestaltet, teils geschrumpft und osmotisch verkrampft. In 0,4 mol KCl sind die Hauptvakuolen nach 15 Minuten stark angeschwollen, die Zellen sind osmotisch verkrampft und sind nicht oder nur träge beweglich.

Um zu prüfen, ob die Vakuolisierung auch durch Durchsaugen von ungewohnten hypertonischen Lösungen zu beheben ist, wurden die vakuolisierten Zellen anstatt mit Standortswasser mit Traubenzucker- bzw. KCl-Lösung ausgewaschen, welche in ihren osmotischen Werten ungefähr denen des Standortswassers entsprachen[2]. Die Zellen wurden mit destilliertem Wasser zur Vakuolisation gebracht und mit 0,35 molarer Traubenzucker- bzw. 0,2 molarer KCl-Lösung ausgewaschen. Bereits nach wenigen Minuten schwillt die Hauptvakuole sehr stark an, während die Vakuolisation zurückgeht. Nach 30 Minuten sind die Hauptvakuolen bei einigen Zellen noch angeschwollen, die Vakuolisation jedoch bei allen Zellen behoben, nach einer weiteren halben Stunde sind alle Zellen wieder normal.

Ein Vergleich mit nichthalophilen Euglenen ergibt, daß eine derartige Vakuolisierung des Plasmas keine allgemein zu beobachtende Erscheinung ist. Es wurde Material aus verschiedenen Standorten der Umgebung von Wien und aus Ulmerfeld in Nieder-

[2] Wasserblätter von *Salvinia natans* erreichen in 0,35 mol TRZ. denselben Plasmolysegrad wie in diesem Standortswasser.

österreich untersucht. Eine Vakuolisation des Plasmas in hypotonischen Medien war bis jetzt nur an den beiden aus den Sodalacken des Neusiedler Sees stammenden Euglenen zu beobachten. Die Konzentration der Salzlösung, aus der die Zellen herkommen, ist offenbar für den Grad der Vakuolisierung von einiger Bedeutung. Das zeigt ein Vergleich der beiden Versuchseuglenen. Beide stammen aus salzhaltigen Standorten, *Euglena halophila* jedoch aus einer weit stärker salzhaltigen Lacke als die aus Illmitz stammende *Euglena geniculata.* Die Vakuolisation erfolgt bei ersterer bedeutend rascher, stärker und regelmäßig bei allen Zellen. Im übrigen sind diese Verhältnisse wahrscheinlich nicht konstant. Durch die jeweilige Witterung bedingt, wechselt ja im Laufe eines bestimmten Zeitraumes die Salzkonzentration der Standorte bedeutend. Es erfolgt dies allerdings nicht in derartig rascher Folge, wie es etwa bei den in der Gezeitenzone liegenden Seewasserlacken der Fall ist (Biebl 1939). Zur Zeit, als das Material gesammelt wurde, waren die Standorte im Begriffe auszutrocknen (besonders der vorhin erwähnte Bombentrichter), die Salzkonzentration daher dementsprechend hoch. Dieser natürliche Wechsel der Standortsverhältnisse läßt sich durch allmähliches Aufgießen einer Probe mit gewöhnlichem Leitungswasser einigermaßen nachahmen. Die Zellen werden dadurch keineswegs geschädigt. Wohl aber werden sie osmotischen Einflüssen (besonders hypotonischen Lösungen) gegenüber weniger empfindlich. Behandelt man solche Zellen nun mit aqua dest., so tritt Vakuolisation nicht mehr derartig extrem auf. Die Waben bleiben klein und werden bei längerem Verweilen im Hypotonikum eher kleiner und unscheinbarer.

Besprechung und Zusammenfassung.

An zwei halophilen Euglenen wurde bei Behandlung mit hypotonischen Lösungen eine vakuolige Zerklüftung des Plasmas beobachtet. Die Waben sind vorerst klein und fließen später zu mehreren großen Vakuolen zusammen. Die Zellen werden dabei bedeutend kürzer, dicker und fast unbeweglich. Saugt man hierauf Standortswasser oder dem osmotischen Wert des Standortswassers entsprechende Traubenzucker- oder KCl-Lösungen durch, so geht die Vakuolisation allmählich vollkommen zurück. Die Zellen werden wieder normal beweglich, doch beginnt sich die Hauptvakuole stark zu vergrößern, bis auch sie wieder unscheinbar wird und alle Zellen die Behandlung ohne Schaden überwunden haben. Die Vakuolisierung des Plasmas erfolgt dabei bedeutend rascher als die Rückkehr zu normaler Zellgestalt und zur Metabolie. Da

diese Erscheinungen wahrscheinlich nur den in Salzgewässern lebenden Euglenen eigen sind, wären sie vielleicht so zu verstehen:

Die Zellen wären in normalem Zustand mit der Salzlösung imbibiert. Saugt man nun z. B. destilliertes Wasser durch, so zieht die Zelle osmotisch Wasser an, es entsteht im Inneren ein Druck, wodurch die Zellen sich abrunden und gleich einem prallen Sack zu einer lebhafteren Bewegung nicht fähig sind (vgl. K. und L. H ö f l e r 1952, S. 101). Dabei wird das Plasma durch Vakuolen aufgespalten. Nach Durchsaugen von Standortswasser bzw. isotonischen Traubenzucker- oder KCl-Lösungen ist nun außen wieder die osmotisch wirksamere Lösung. Nun erfolgt ein osmotischer Ausgleich, während die Vakuolisation zurückgeht.

Es war nun zu klären, ob die Vakuolisation des Plasmas lediglich eine Folge der Hypotonie des aqua dest. gegenüber dem Standortswasser ist oder ob die Abwesenheit der im Standortswasser gelösten Salze dafür verantwortlich ist. Um das zu prüfen, wurden die Zellen in Traubenzucker- und KCl-Lösungen von 0,05 bis 0,4 mol eingebracht. Das Standortswasser hatte einen osmotischen Wert, der dem einer 0,35 molaren Traubenzuckerlösung entsprach.

Es zeigte sich, daß die Vakuolisierung bei 0,05 mol TRZ. normal eintrat. Auch bei 0,1 mol ist sie noch, wenn auch in geringem Grade, vorhanden. In 0,15 bis 0,3 mol erfolgt keine Vakuolisation mehr. Die Zellen bleiben normal wie im Standortswasser. In 0,4 mol TRZ. ist eine leichte Schrumpfung einzelner Zellen zu sehen, ohne daß die Hauptvakuole merklich anschwillt. Bei 0,5 mol zeigen sich dann die bekannten Erscheinungen der Vergrößerung der Hauptvakuolen bei gleichzeitiger Schrumpfung der Zellen.

Prinzipiell gleich verläuft dieser Versuch in entsprechenden KCl-Lösungen. Hier tritt Vakuolisation erwartungsgemäß nur mehr bei sehr niedrigen Konzentrationen auf. Die Grenze liegt hier bei 0,05 mol. Beachtenswert ist die verhältnismäßig hohe Konzentration, welche nötig ist, um sichtbare osmotische Veränderungen an der Zelle hervorzurufen. Während TRZ. bereits bei 0,4 mol die Zellen zum Schrumpfen bringt, so zeigt KCl erst bei 0,3 mol dieselbe Wirkung (isoton. Koeff. 1,68 nach F i t t i n g [1917]). Da der Periplast für Salze wohl in gewissem Grade permeabel ist (vgl. K. u. L. H ö f l e r 1952), ist das verständlich.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die Vakuolisation des Plasmas offenbar durch das hypotonische Außenmedium verursacht wird. Wäscht man übrigens Zellen, welche in 0,3 mol TRZ. liegen, mit Standortswasser aus, so zeigen sie keine Reaktion auf

diesen Vorgang. Der osmotische Wert des Außenmediums wurde nicht entscheidend verändert, und das scheint hier wichtig zu sein.

Da die Vakuolisation bei 0,15 mol TRZ. nicht mehr eintritt und der osmotische Wert des Standortswassers 0,35 mol TRZ. entspricht, so muß offenbar, zumindest bei dieser Euglena, die Hypotonie der durchgesaugten Lösung gegenüber dem Standortswasser mehr als 0,2 mol TRZ. betragen, um eine Vakuolisierung zu erreichen. Betrachtet man die sonst üblichen Euglenenstandorte, so werden osmotische Werte entsprechend einer 0,2—0,3 molaren Traubenzuckerlösung nicht häufig vorkommen. An Euglenen aus weniger extremen Standorten ist daher, selbst bei Verwendung von aqua dest. als Hypotonikum, eine Vakuolisierung nicht zu erwarten. Zumindest konnte ich sie, wie schon erwähnt, an solchem Material nicht beobachten. Wie die Verhältnisse an anderen Euglenen aus anderen Standorten liegen, wäre zu untersuchen. Wahrscheinlich ist neben der hohen Salzkonzentration der Standorte auch die Viskosität des Plasmas und die mehr oder minder große Festigkeit der Pellikula von einiger Bedeutung.

Es sei gestattet, dem Vorstand des Pflanzenphysiologischen Institutes, Herrn Prof. Dr. Karl Höfler, für die Anregung und stete Förderung meiner Arbeit aufrichtig zu danken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. Josef Schiller schulde ich für die Beschreibung der neuen Euglena sowie für sein liebenswürdiges Entgegenkommen herzlichen Dank.

Literaturverzeichnis.

Biebl, R., 1939: Protoplasmatische Ökologie der Meeresalgen. Ber. D. bot. G., 57, S. 78.

Cholnoky, B. v., 1930: Adnotations IV. Floristisch-ökologische Bacillarien-Untersuchungen in den südlichen Teilen der ungarischen Tiefebene. Magyar. Bot. Lapok, 28, S. 100.

Dangeard, A. P., 1902: Recherches sur les Eugleniens. Le Botaniste 8.

Fitting, H., 1917: Untersuchungen über isotonische Koefficienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Jahrb. f. wiss. Bot., 57, S. 553.

Hilmbauer, K., 1954: Zellphysiologische Studien an Euglenaceen, besonders an Trachelomonas. Protoplasma, Bd. 43 im Druck.

Höfler, K. u. L., 1952: Osmoseverhalten und Nekroseformen von Euglena. Protoplasma 1952, 41, S. 76.

Huber, B. u. Höfler, K., 1930: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jahrb. f. wiss. Bot., 73, S. 351.

Klebs, G., 1883: Über die Organisation einiger Flagellatengruppen und ihre Beziehungen zu Algen und Infusorien. Unters. Bot. Inst. Tübingen, Bd. 1, S. 233.

Legler, F., 1941: Zur Ökologie der Diatomeen burgenländischer Natrontümpel. Sitzber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. 1, 150, 45.

Lemmermann, C., 1930: Kryptogamenflora der Provinz Brandenburg. Bd. 3, Algen 1.

Pascher, A., 1914: Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. H. 2, Flagellatae 2.

Schiller, J., 1952: Neue oder wenig bekannte Mikrophyten aus dem Neusiedler See und benachbarter Gebiete. Österr. bot. Ztg., 99, S. 363.

Skuja, H., 1948: Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. Symbolae Botan. Upsalienses, IX, 3.

Yasuda, A., 1899: Über die Anpassungsfähigkeit einiger Infusorien in konzentrierten Lösungen. Arb. Bot. Inst. Univ. Tokyo.